

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 20 日現在

機関番号：34318

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 年度～2011 年度

課題番号：21590939

研究課題名（和文） 心不全における心筋修復機構の解明；心筋オートファジーとミトコンドリア機能解析

研究課題名（英文） Cardiac Autophagy and Mitochondria in the Progress of Heart Failure

研究代表者

金井 恵理 (IWAI-KANAI ERI)

明治国際医療大学・医学教育研究センター・教授

研究者番号：20372584

研究成果の概要（和文）：

我々は、心筋オートファジーの流れを検出する新しい評価方法を使い、心不全の進展における心筋修復機構の解明を行った。その結果、心不全の初期に心筋オートファジーが亢進し、心筋保護に働くことを突き止めた。また、虚血心筋や糖尿病、あるいは抗がん剤による障害心筋においてはこの心筋修復機構が障害され、p53-TIGARの経路がこれを制御していることを示した。

研究成果の概要（英文）：

Using a new method for cardiac autophagy which was established by us, we examined the mechanism of cardiac repair in the progress of heart failure. Cardiac autophagy was accelerated in the early phase of heart failure, which was key for cardiac protection. In the heart of metabolic disorder, ischemia, or anti-cancer drug, the control of cardiac autophagy was impaired and p53-TIGAR pathway acted as a critical role for cardiac cellular fate.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：心不全、ミトコンドリア、細胞死、オートファジー

1. 研究開始当初の背景

科学研究の進歩にも関わらず、心不全は以前にも増して臨床的にも社会的にも問題になってきた。心不全の進展には、心臓にエネルギーを供給する心筋ミトコンドリアの機能異常と、アポトーシスやネクロシスなどの心筋細胞死が大きく寄与する。また近年、“自食”による生体の自己修復メカニズムである“オートファジー”が、ヒト心不全の心筋に観察されることがわかってきた。

2. 研究の目的

心不全における心筋修復機構を、オートファジーと p53 の関与するミトコンドリアエネルギー代謝の観点から明らかにし、心不全の新しい治療法開発につながる病態を解明する。

3. 研究の方法

独自に開発した心筋 autophagic Flux の新しい評価方法 (Iwai-Kanai E, et.al. *Autophagy*.2008;4(3):322-9.) を用いて、次の方法にて研究を進めた。

1. 心筋オートファジーにおける細胞内伝達経路の解明。

MAP kinase やカルシウムシグナリング、mTOR 経路など、心不全における心筋オートファジーの細胞内シグナル伝達を、Western blotting、RT-PCR や各種阻害剤を用いた Inhibition assay などの *in vitro* 実験系を用いて検討した。

2. 心筋オートファジーにおけるミトコンドリアエネルギー代謝の調節実験。

オートファジーにおけるミトコンドリアエネルギー代謝を、ミトコンドリアの融合と解離の評価、糖もしくは脂肪酸代謝の検討、そして p53 関連タンパクの制御などを通して、心筋保護のために重要なエネルギー代謝調節経路を究明した。

3. 心不全モデルへの介入治療研究。

心筋オートファジーを調節して心保護に働く方法を、単独もしくは既知の治療と共に、心筋梗塞モデルや糖尿病モデル、心不全動物実験モデルに導入し、効果を生存率、心エコー、心筋組織検査、などで評価した。

4. 研究成果

心不全の初期に心筋オートファジーが亢進し、心筋修復機構が働くことを示した。虚血心筋モデル、糖尿病動物モデルにて、p53-TIGARの経路が、オートファジー、特にミトファジーに関与することを発見した。また脂質代謝異常や糖代謝異常において、心筋修復機構の破綻が関与し、p53がその制御に関わることを示した。さらに抗がん剤による心筋症の発生に、心筋修復機構の調節障害が関与することを示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

Shiraishi J, Kohno Y, Sawada T, Hashimoto S, Ito D, Kimura M, Matsui A, Yokoi H, Arihara M, Irie H, Hyogo M, Shima T, Nakamura T, Matoba S, Yamada H, Matsumuro A, Shirayama T, Kitamura M, Furukawa K, Matsubara H. Prognostic impact of systolic blood pressure at admission on in-hospital outcome after primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. J Cardiol. 2012 Apr 21. [Epub ahead of print]

Nakamura H, Matoba S, Iwai-Kanai E, Kimata M, Hoshino A, Nakaoka M, Katamura M, Okawa Y, Ariyoshi M, Mita Y, Ikeda K, Okigaki M, Adachi S, Tanaka H, Takamatsu T, Matsubara H. p53 promotes cardiac dysfunction in diabetic mellitus caused by excessive mitochondrial respiration-mediated reactive oxygen species generation and lipid accumulation. Circ Heart Fail. 2012 Jan;5(1):106-15. Epub 2011 Nov 9.

Uraoka M, Ikeda K, Kurimoto-Nakano R, Nakagawa Y, Koide M, Akakabe Y, Kitamura Y, Ueyama T, Matoba S, Yamada H, Okigaki M, Matsubara H. Loss of bcl-2 during the senescence exacerbates the impaired angiogenic functions in endothelial cells by deteriorating the mitochondrial redox state. Hypertension. 2011 Aug;58(2):254-63. Epub 2011 Jul 5. Erratum in: Hypertension. 2012 Apr;59(4):e37.

Hoshino A, Matoba S, Iwai-Kanai E, Nakamura H, Kimata M, Nakaoka M, Katamura M, Okawa Y, Ariyoshi M, Mita Y, Ikeda K, Ueyama T, Okigaki M, Matsubara H. p53-TIGAR axis attenuates mitophagy to exacerbate cardiac damage after ischemia. J Mol Cell Cardiol. 2012 Jan;52(1):175-84. Epub 2011 Oct 18.

Koide M, Ikeda K, Akakabe Y, Kitamura Y, Ueyama T, Matoba S, Yamada H, Okigaki M, Matsubara H. Apoptosis regulator through modulating IAP expression (ARIA) controls the PI3K/Akt pathway in endothelial and endothelial progenitor cells. Proc Natl Acad Sci U S A.

Katsume A, Okigaki M, Matsui A, Che J, Adachi Y, Kishita E, Yamaguchi S, Ikeda K, Ueyama T, Matoba S, Yamada H, Matsubara H. Early inflammatory reactions in atherosclerosis are

induced by proline-rich tyrosine kinase/reactive oxygen species-mediated release of tumor necrosis factor- α and subsequent activation of the p21Cip1/Ets-1/p300 system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011

Kimata M, Matoba S, Iwai-Kanai E, Nakamura H, Hoshino A, Nakaoka M, Katamura M, Okawa Y, Mita Y, Okigaki M, Ikeda K, Tatsumi T, Matsubara H. p53 and TIGAR regulate cardiac myocyte energy homeostasis under hypoxic stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010 Dec;299(6):H1908-16. Epub 2010 Oct 8.

Nakagawa Y, Ikeda K, Akakabe Y, Koide M, Uraoka M, Yutaka KT, Kurimoto-Nakano R, Takahashi T, Matoba S, Yamada H, Okigaki M, Matsubara H. Paracrine osteogenic signals via bone morphogenetic protein-2 accelerate the atherosclerotic intimal calcification in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 Oct;30(10):1908-15. Epub 2010 Jul 22.

Nomura T, Tatsumi T, Sawada T, Kojima A, Uraoka Y, Enomoto-Uemura S, Nishikawa S, Keira N, Nakamura T, Matoba S, Yamada H, Matsumuro A, Shirayama T, Shiraishi J, Kohno Y, Kitamura M, Furukawa K, Matsubara H; AMI-Kyoto Multi-Center Risk Study Group. Clinical manifestations and effects of primary percutaneous coronary intervention for patients with delayed pre-hospital time in acute myocardial infarction. *J Cardiol.* 2010 Sep;56(2):204-10. Epub 2010 Jun 22.

Hiraumi Y, Iwai-Kanai E, Baba S, Yui Y, Kamitsuji Y, Mizushima Y, Matsubara H, Watanabe M, Watanabe K, Toyokuni S, Matsubara H, Nakahata T, Adachi S.

Granulocyte colony-stimulating factor protects cardiac mitochondria in the early phase of cardiac injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009 Mar;296(3):H823-32. Epub 2009 Jan 9.

Yuan H, Perry CN, Huang C, Iwai-Kanai E, Carreira RS, Glembotski CC, Gottlieb RA. LPS-induced autophagy is mediated by oxidative signaling in cardiomyocytes and is associated with cytoprotection. Yuan H, Perry CN, Huang C, Iwai-Kanai E, Carreira RS, Glembotski CC,

Uraoka M, Ikeda K, Nakagawa Y, Koide M, Akakabe Y, Nakano-Kurimoto R, Takahashi T, Matoba S, Yamada H, Okigaki M, Matsubara H. Prorenin induces ERK activation in endothelial cells to enhance neovascularization independently of the renin-angiotensin system. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 Dec 25;390(4):1202-7. Epub 2009 Oct 29.

Honsho S, Nishikawa S, Amano K, Zen K, Adachi Y, Kishita E, Matsui A, Katsume A, Yamaguchi S, Nishikawa K, Isoda K, Riches DW, Matoba S, Okigaki M, Matsubara H. Pressure-mediated hypertrophy and mechanical stretch induces IL-1 release and subsequent IGF-1 generation to maintain compensative hypertrophy by affecting Akt and JNK pathways. *Circ Res.* 2009 Nov 20;105(11):1149-58. Epub 2009 Oct 15.

Nakano-Kurimoto R, Ikeda K, Uraoka M, Nakagawa Y, Yutaka K, Koide M, Takahashi T, Matoba S, Yamada H, Okigaki M, Matsubara H. Replicative senescence of vascular smooth muscle cells enhances the calcification through initiating the osteoblastic transition. *Am J*

Physiol Heart Circ Physiol. 2009
Nov;297(5):H1673-84. Epub 2009 Sep 11.

〔学会発表〕 (計 23 件)

Mita Y, Iwai-Kanai E, Matoba S, Nakaoka M, Kimata M, Nakamura H, Hoshino A, Katamura M, Okawa Y, Matsubara H. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) protects cardiac myocytes against doxorubicin induced injury via the stabilization of MDM2. 第 77 回日本循環器学会学術集会. 2012.3.17-19, 福岡

Katamura M, Matoba S, Iwai-Kanai E, Kimata M, Nakamura H, Nakaoka M, Hoshino A, Okawa Y, Mita Y, Matsubara H. Curcumin protect mice heart against doxorubicin induced cardiomyopathy thorough the induction of autophagy 第 77 回日本循環器学会学術集会. 2012.3.17-19, 福岡

Hoshino A, Matoba S, Iwai-Kanai E, Kimata M, Nakamura H, Nakaoka M, Katamura M, Mita Y, Matsubara H. P53 promotes cardiac aging through the inhibition of parkin mediated mitochondrial quality control. The 84th Scientific Sessions of the American Heart Association 2011.11.12-16 Orlando, U.S.A.

Hoshino A, Matoba S, Iwai-Kanai E, Kimata M, Nakamura H, Katamura M, Mita Y, Matsubara H. P53-TIGAR axis attenuates mitophagy to exacerbate cardiac damage after ischemia. The 84th Scientific Sessions of the American Heart Association 2011.11.12-16 Orlando, U.S.A.

Nakamura H, Matoba S, Iwai-Kanai E,

Kimata M, Hoshino A, Katamura M, Adachi S, Matsubara H. Mitochondrial Respiration-Mediated ROS Generation and Lipid Accumulation. The 84th Scientific Sessions of the American Heart Association 2011.11.12-16 Orlando, U.S.A.

三田雄一郎、的場聖明、松原弘明、木股正樹、中村英夫、星野温、中岡幹彦、片村真紀、大川善文、三田雄一郎、金井恵理 G-CSF による心筋保護効果と抗がん作用への影響。第 20 回日本 Cell Death 学会 2011.7.29-30, 東京。

片村真紀、的場聖明、松原弘明、木股正樹、中村英夫、中岡幹彦、星野温、大川善文、三田雄一郎、金井恵理。ドキソルビシン心筋障害に対しクルクミンは心筋保護作用を示す。第 20 回日本 Cell Death 学会 2011.7.29-30, 東京。

Hoshino A, Matoba S, Iwai-Kanai E, Kimata M, Nakamura H, Nakaoka M, Katamura M, Mita Y, Matsubara H. p53-Mediated Decrease in ROS Signal Reduces Mitophagy via Inactivation of Bnip3 to Aggravate Cardiac Damage After Ischemic Injury. American Heart Association Scientific Sessions 2010. Nov.14-16. Chicago, Illinois, USA

Nakamura H, Matoba S, Iwai-Kanai E, Kimata M, Hoshino A, Katamura M, Adachi S, Matsubara H. p53-mediated Acceleration of Mitochondrial Oxygen Consumption Promotes Lipotoxicity via SCO2 in Diabetic Mice. American Heart Association Scientific Sessions 2010. Nov.14-16. Chicago, Illinois, USA

Doue T, Iwai-Kanai E*, Ohtsuki K, Matoba S, Ogawa K, Matsubara H. Imaging oxidative stress in unstable atherosclerotic plaque with iodine-125-labeled 4-hydroxy-2-nonenal in vivo. American Heart Association Scientific Sessions 2010. Nov.14-16. Chicago, Illinois, USA.

Iwai-Kanai E, Hiraumi Y, Matoba S, Adachi S, Matsubara H. G-CSF protects cardiac mitochondria. Mitochondrial Conference of NIH. 2010Nov. Washington DC, USA.

星野 温、的場聖明、金井恵理、中岡幹彦、木股正樹、中村英夫、片村真紀、堂上友紀、松原弘明. p53 発現抑制におけるオートファジーを介した虚血心筋保護効果. 第19回日本 cell death 学会 2010年8月名古屋

中岡幹彦、金井恵理、的場聖明、木股正樹、中村英夫、星野 温、片村真紀、堂上友紀、松原弘明. 交感神経刺激による心筋アポトーシス、オートファジーの制御. 第19回日本 cell death 学会 2010年8月名古屋

Iwai-Kanai E. 新型インフルエンザ AH1pdm の動向と心筋炎. 第74回日本循環器学会学術集会 2010年3月京都

Iwai-Kanai E, Hiraumi Y, Matoba S, Adachi S, Matsubara H. The Role of Autophagy in Diastolic Heart Failing State of Heart Failure. 第74回日本循環器学会学術集会 2010年3月京都

Nakamura H, Matoba S, Iwai-Kanai E,

Kimata M, Hoshino A, Katamura M, Adachi S, Matsubara H. p53 and SCO2 (Synthesis of Cytochrome c Oxidase 2) Augment the Progression of Diabetic Cardiomyopathy. 第74回日本循環器学会学術集会 2010年3月京都

Kimata M, Matoba S, Iwai-Kanai E, Nakamura H, Hoshino A, Nakaoka M, Katamura M, Okawa Y, Mita Y, Okigaki M, Ikeda K, Tatsumi T, Matsubara H. Hypoxia-Induced p53 Deteriorates Cardiac Energetics and Apoptotic Cell Death via TIGAR (TP53-Induced Glycolysis and Apoptosis Regulator) 第74回日本循環器学会学術集会 2010年3月京都

Nakaoka M, Iwai-Kanai E, Matoba S, Kimata M, Nakamura H, Hoshino A, Katamura M, Adachi S, Matsubara H. Differential roles of Akt and Extracellular signal-regulated kinase signaling pathways on autophagy during alpha1-adrenergic agonist mediated cardioprotection 第74回日本循環器学会学術集会 2010年3月京都

Iwai-Kanai E G-CSF protects cardiac myocytes in the progress of heart failure. Protein Peptide Conference-2010 2010 March 21-23 Beijing, China.

Iwai-Kanai E, et.al. 高齢予備世代の高血圧患者とMRI 集団健診を用いたハイリスクアプローチ: 京都府乙訓地域における疫学研究 第32回日本高血圧学会 2009.10.2-3, 大津

Nakaoka M, Iwai-Kanai E, et.al 交感神経の亢進による心筋オートファジーの誘導 第32回

日本高血圧学会 2009.10.2-3, 大津

Kimata M, Matoba S, Iwai-Kanai E,
et.al.P53/TIGAR はグルコース代謝を抑えて
心筋アポトーシスを誘導する第32回日本
高血圧学会 2009.10.2-3, 大津

Nakaoka M, Iwai-Kanai E, et.al. 心不全の
進展における心筋細胞死とオートファジー
による心保護のメカニズム 第18回日本
Cell Death 学会 2010.08.1-2, 長崎

Hoshino A, Iwai-Kanai E, et.al 心筋虚血に
おける p53 と心筋 第18回日本 Cell
Death 学会 2010.08.1-2, 長崎

〔図書〕(計4件)

麴谷康子、金井恵理. 心不全. プチナース疾
患別看護過程 照林社、東京 2012.

金井恵理、松森昭. 肥大型心筋症. 最新治療
「循環器疾患」文光堂、東京 2012.

岡田朱美、金井恵理. 心筋梗塞. プチナース
疾患別看護過程 照林社、東京 2011.

金井恵理. 心臓 MRS. 磁気共鳴スペクトルの
医学応用—基礎から臨床まで—.
株インナービジョン、東京 2012.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
[http://www.f.kpu-m.ac.jp/k/med2/group/
cardio/kenkyu-07.html](http://www.f.kpu-m.ac.jp/k/med2/group/cardio/kenkyu-07.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金井 恵理 (IWAI-KANAI ERI)
明治国際医療大学・医学教育研究センタ
ー・教授
研究者番号：20372584

(2) 研究分担者

的場 聖明 (MATOBA SATOAKI)
京都府立医科大学・医学研究科・助教
研究者番号：10305576

(3) 連携研究者

()

研究者番号：